Für die Vollständigkeit und Richtigkeit der einzelnen Inhalte der Vorlesung 61-020 „Einführung in die Pflanzenphysiologie“ kann keine Gewähr übernommen werden.

Es ist nicht gestattet, diese Vorlesung oder Teile dieser Vorlesung ohne ausdrückliche Genehmigung der Dozentinnen und Dozenten für die Wiedergabe im Druck, Vorträge oder eine andere Art der Veröffentlichung, auch nicht im Internet, zu verwenden. Für Teile der Abbildungen liegen die Rechte bei Buchverlagen, wissenschaftlichen Zeitschriften oder bei den Dozentinnen und Dozenten dieser Veranstaltung.

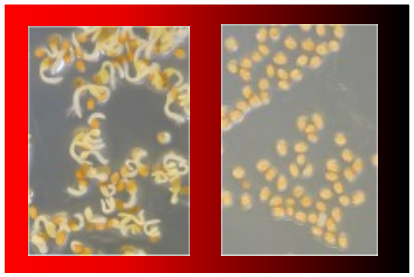
Hamburg, 12.12. 2022 Prof. Stefan Hoth

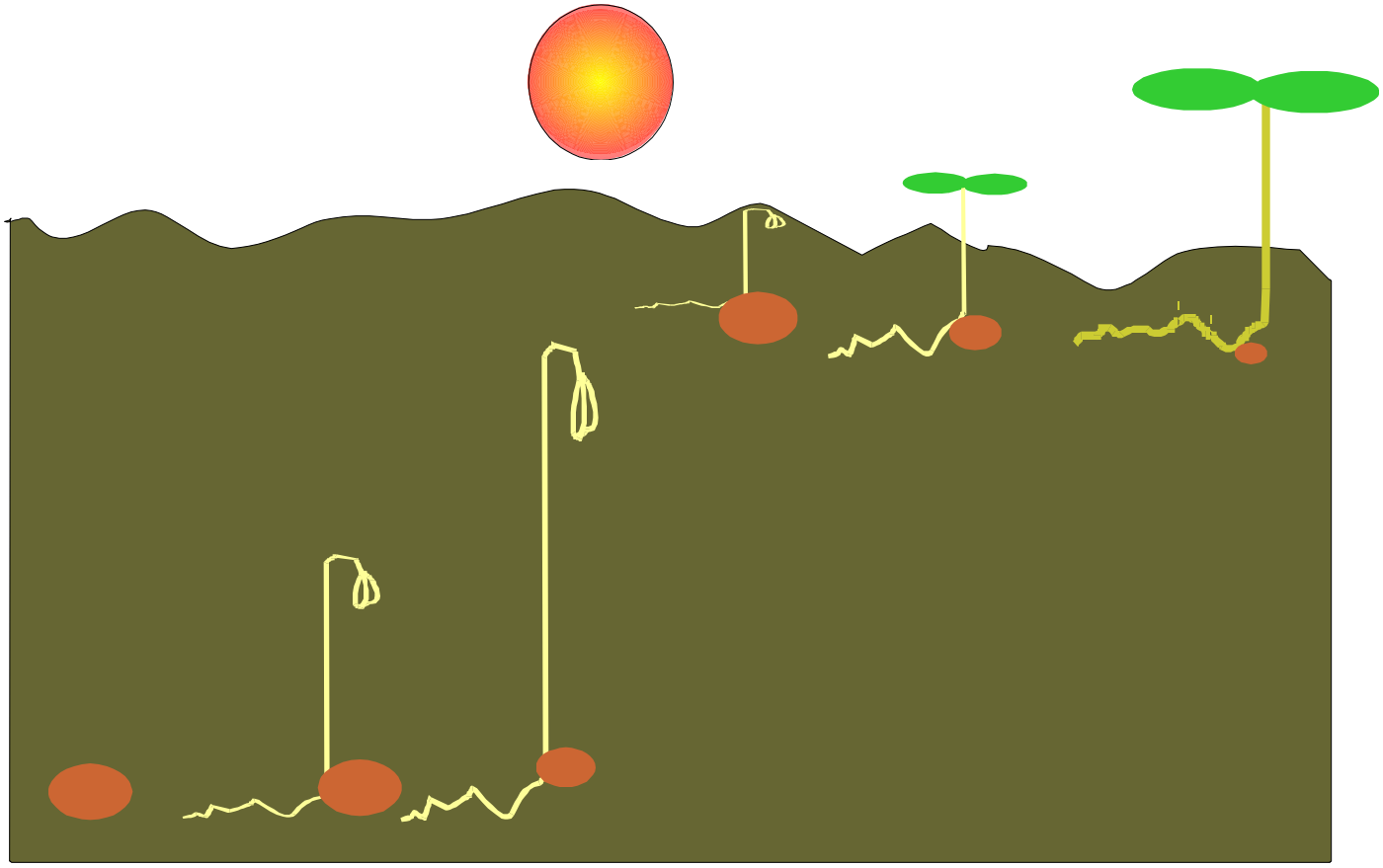
# Geplanter Ablauf der Vorlesung

| | |
|---|---|
| 17. Oktober 2022 | Wasserhaushalt |
| 24. Oktober 2022 | Mineralstoffernährung |
| 7. November 2022 | Mineralstoffernährung/ Bodenkunde |
| 14. November 2022 | Photosynthese |
| 21. November 2022 | Photosynthese |
| 28. November 2022 | Photosynthese |
| 5. Dezember 2022 | Photosynthese |
| 12. Dezember 2022 | Photosynthese |
| 19. Dezember 2022 | Pflanzenhormone |
| 9. Januar 2023 | Pflanzenhormone |
| 16. Januar 2023 | Pflanzenhormone |
| 23. Januar 2023 | Licht als Entwicklungsstimulus |
| 30. Januar 2023 | Licht als Entwicklungsstimulus |

# Entwicklungsphysiologie Licht

## Samenkeimung und Keimungsentwicklung





# Entwicklungsphysiologie Hormone

Allgemeines zu Phytohormonen

Ethylen

Auxine

Cytokinine

Gibberelline

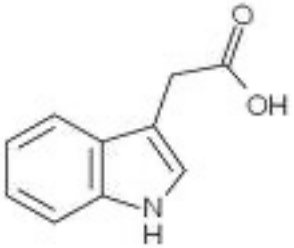
Abscisinsäure

Jasmonate

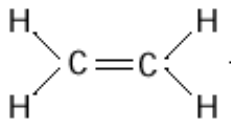
Brassinosteroide

Salicylsäure

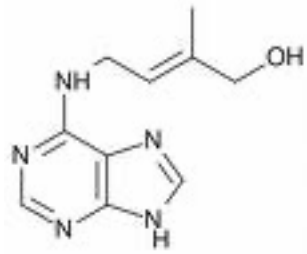
Peptidhormone (Systemin, etc.)



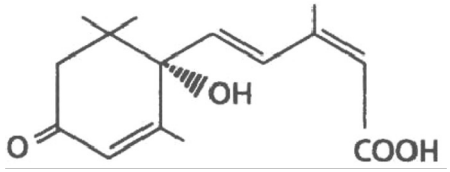

Indol-3-Essigsäure
(ein Auxin)



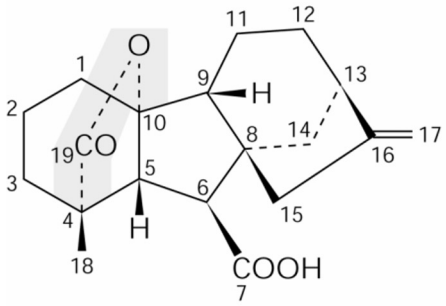

Ethylen



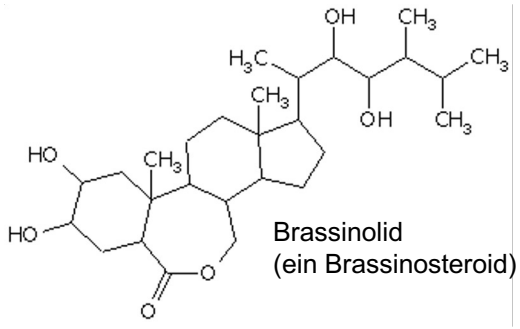

Zeatin (ein Cytokinin)



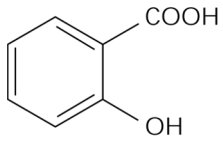

ABA (abscisic acid)



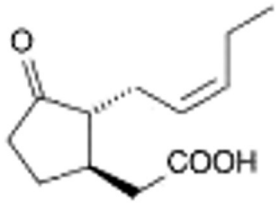

$C_{19}$-Gibberellin




Brassinolid
(ein Brassinosteroid)




Salicylsäure




Jasmonsäure

# Entdeckungsgeschichte der Phytohormone

| | | |
|---|---|---|
| 1758 | D. du MONCEAU | These: “Bewegung des Phloemsafts kontrolliert Wachstum der Pflanze” |
| 1880 | Charles DARWIN | Experimente zum Phototropismus (Buch: "The Power of Movement in Plants.") |
| 1887 | Julius von SACHS | vermutete " organbildende Stoffe , die in der Pflanze wandern und die Entwicklung von Wurzeln und Sproßknospen auslösen“. |
| 1905 | E.H. STARLING | definierte den Hormonbegriff (nur bezogen auf “Stoffe des menschlichen und tierischen Körpers, die in Drüsen gebildet und in die Blutbahn abgesondert werden, um andernorts ihre spezifische Wirkung zu entfalten“) |
| 1922 | R. KOLKWITZ | "Reizstoffe und Hormone: durch innere Sekretion gebildete Anregungsstoffe" (Buch "Pflanzenphysiologie. Versuche und Beobachtungen an höheren und niederen Pflanzen") |
| 1928 | F.W. WENT | Als Entdecker des Pflanzenhormons Auxin (IAA) [aufbauend auf Experimenten von A. PAAL (1914), P. STARK (1921) und E. SEUBERT (1925)] beschreibt er einen "Wuchsstoff" als stoffliche Komponente für das Zustandekommen von Krümmungsbewegungen bei dekapitierten etiolierten Haferkoleoptilen<br>(Chemische Identifizierung des "Wuchsstoffes" später) |
| 1926 | E. KUROSAWA | Stoffwechselprodukte eines Pilzes rufen krankhaftes Längenwachstum bei Reispflanzen hervor (Gibberelline )<br>erst 1957 als natürlich vorkommende Phytohormongruppe auch in höheren Pflanzen nachgewiesen |
| 1940 | | Kokosnußmilch fördert die Zellteilungsaktivität in Gewebekulturen<br>(Wirkung der Cytokinine ) |
| 1955 | | Aus DNA -Hydrolysaten von Heringssperma konnte 1955 ein Stoff gewonnen werden, der ähnliche, zellteilungsfördernde Wirkungen zeigte und Kinetin genannt wurde |
| 1964 | | Aus unreifen Körnern des Mais (Zea mays) wurde pflanzeneigenes Cytokinin gewonnen ( Zeatin ) |
| bis heute | | ABA (Untersuchungen zu Blattabwurf und Samenruhe)<br>Ethylen (Untersuchungen zur Dunkelkeimung, Fruchtreife)<br>Brassinosteroide , Salicylate, Jasmonate, Polyamine, Peptidhormone (Systemin) |

# Das Hormon-Konzept im Tierreich

Hormon *(gr. hormaein = reizen, antreiben)*

Im klassischen Sinne sind Hormone Substanzen, die ...

- ... in winzigen Mengen aktiv sind
- ... in bestimmten Geweben (Drüsen) gebildet werden
- ... durch die Blutbahn zu den Wirkorten transportiert werden
- ... am Wirkort erkannt werden und spezifische Reaktion auslösen

# Das Hormon-Konzept im Tierreich

**Hormon-induzierte Reaktionen sind zwei Kategorien zuzuordnen:**

1. **Reversible Reaktionen:** Änderungen von Stoffwechselaktivitäten;

   Einstellung des Zellstoffwechsels auf den jeweiligen Bedarf

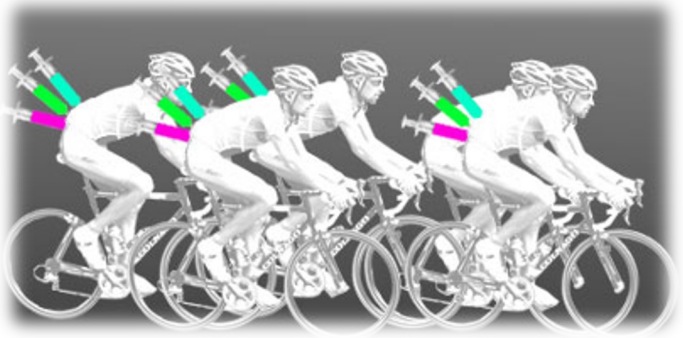
   *Beispiel:* **Insulin** (steuert Blutzuckerspiegel)

2. **Irreversible Steuerung:** Wachstums- und Differenzierungsvorgänge

   *Beispiele:*

   (a) zu wenig Wachstumshormon führt zu Zwergwuchs

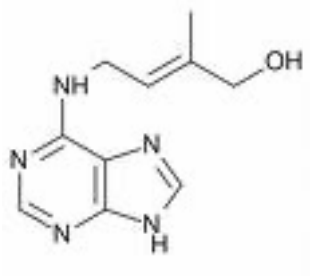
   (b) Erythropoetin (EPO) induziert die letzten Schritte der Erythrozytendifferenzierung



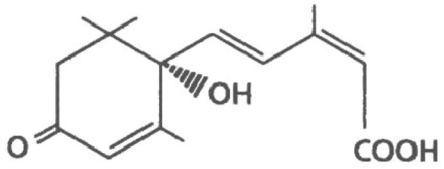
# Was ist ein Pflanzenhormon ?

**nicht alle klassischen Definitionen treffen zu,**
**trotzdem spricht man von pflanzlichen Hormonen (Phytohormonen)**

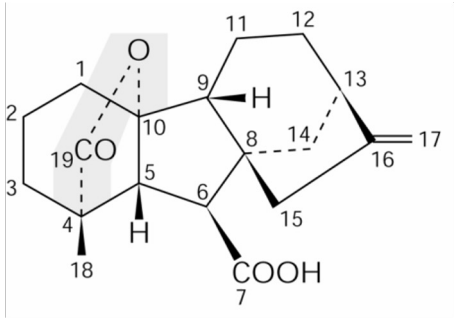
- Phytohormone sind ausnahmslos kleine organische Moleküle



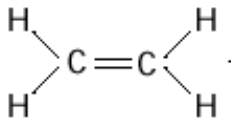

Zeatin (ein Cytokinin)



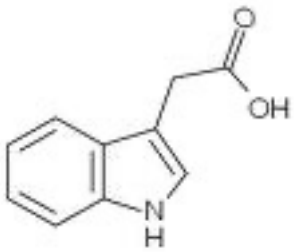

ABA (abscisic acid)



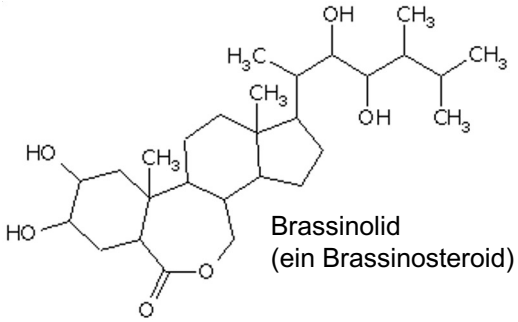

$C_{19}$-Gibberellin



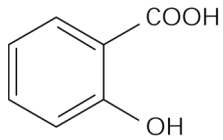

Ethylen



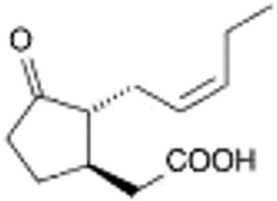

Indol-3-Essigsäure
(ein Auxin)




Brassinolid
(ein Brassinosteroid)




Salicylsäure




Jasmonsäure

# Was ist ein Pflanzenhormon ?

**nicht alle klassischen Definitionen treffen zu,**
**trotzdem spricht man von pflanzlichen Hormonen (Phytohormonen)**

- Phytohormone sind ausnahmslos kleine organische Moleküle
- Phytohormone werden von der Pflanze synthetisiert
- Phytohormone sind aktiv in Konzentrationen zwischen $10^{-6}$ und $10^{-8}$ M
- Synthese und Wirkort sind nicht immer verschieden
  (einige Membranrezeptoren und intrazelluläre Rezeptoren identifiziert)
- Ausbreitung der Phytohormone im Gewebe erfolgt
  - von Zelle zu Zelle (z.B. beim Auxin),
  - über Leitbündel (z.B. bei Cytokininen) oder
  - über Interzellularen (z.B. Ethylen)

# Was ist ein Pflanzenhormon ?

## nicht als Pflanzenhormone bezeichnet werden ...

... **anorganische Substanzen** wie $Ca^{2+}$ and $K^{+}$

- führen zu physiologischen Reaktionen
- werden in der Pflanze bewegt

*aber* nicht von der Pflanze synthetisiert → kein Phytohormon

... **synthetische Wachstumsregulatoren** 2,4-D

nicht von der Pflanze synthetisiert → kein Phytohormon

... **Saccharose**

wird von der Pflanze synthetisiert
wird transportiert,
führt zu physiologischen Reaktionen

*aber* wirkt nur in hohen Konzentrationen → kein Phytohormon

# Was ist ein Pflanzenhormon ?

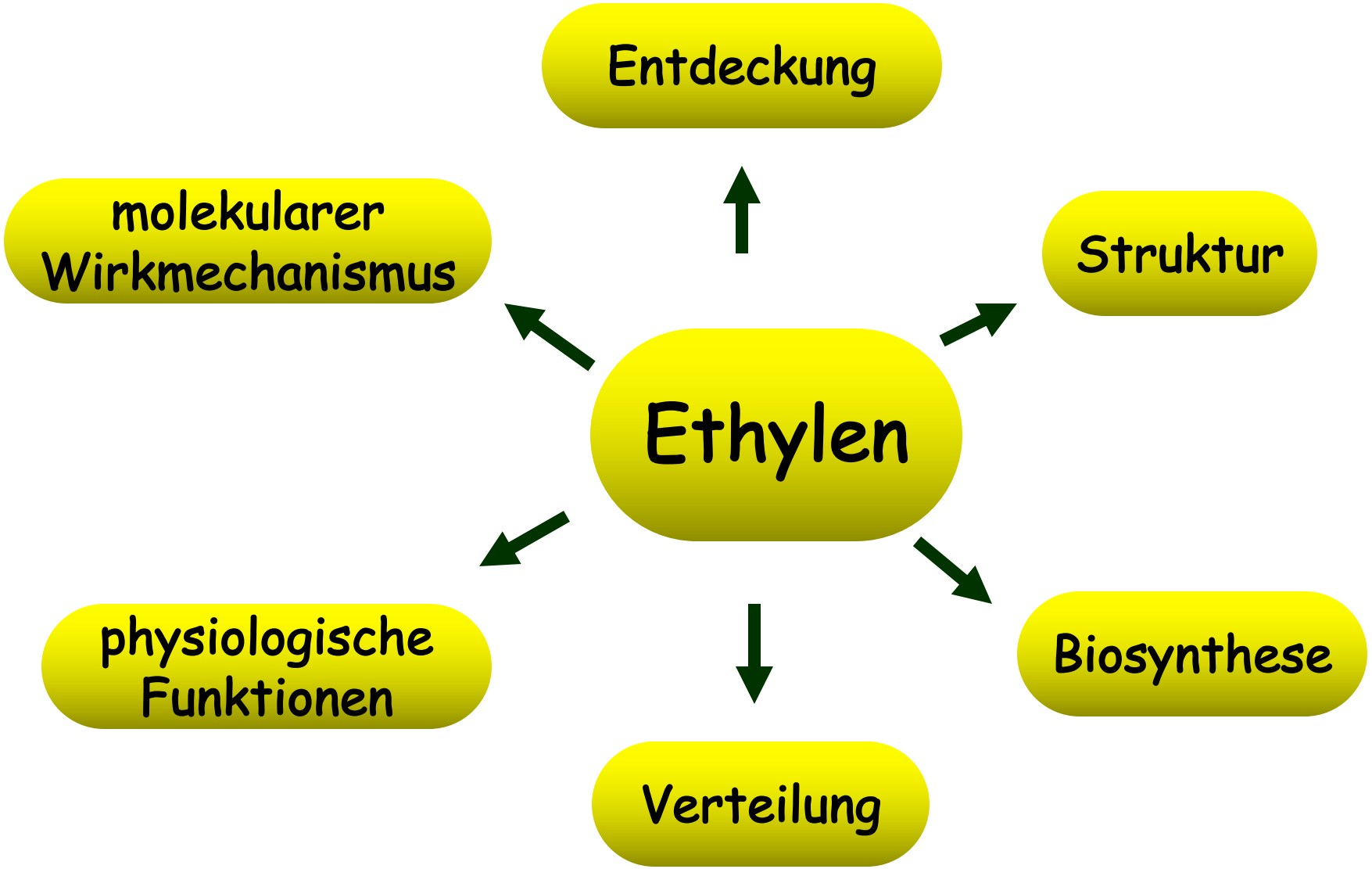
## klassische Phytohormone

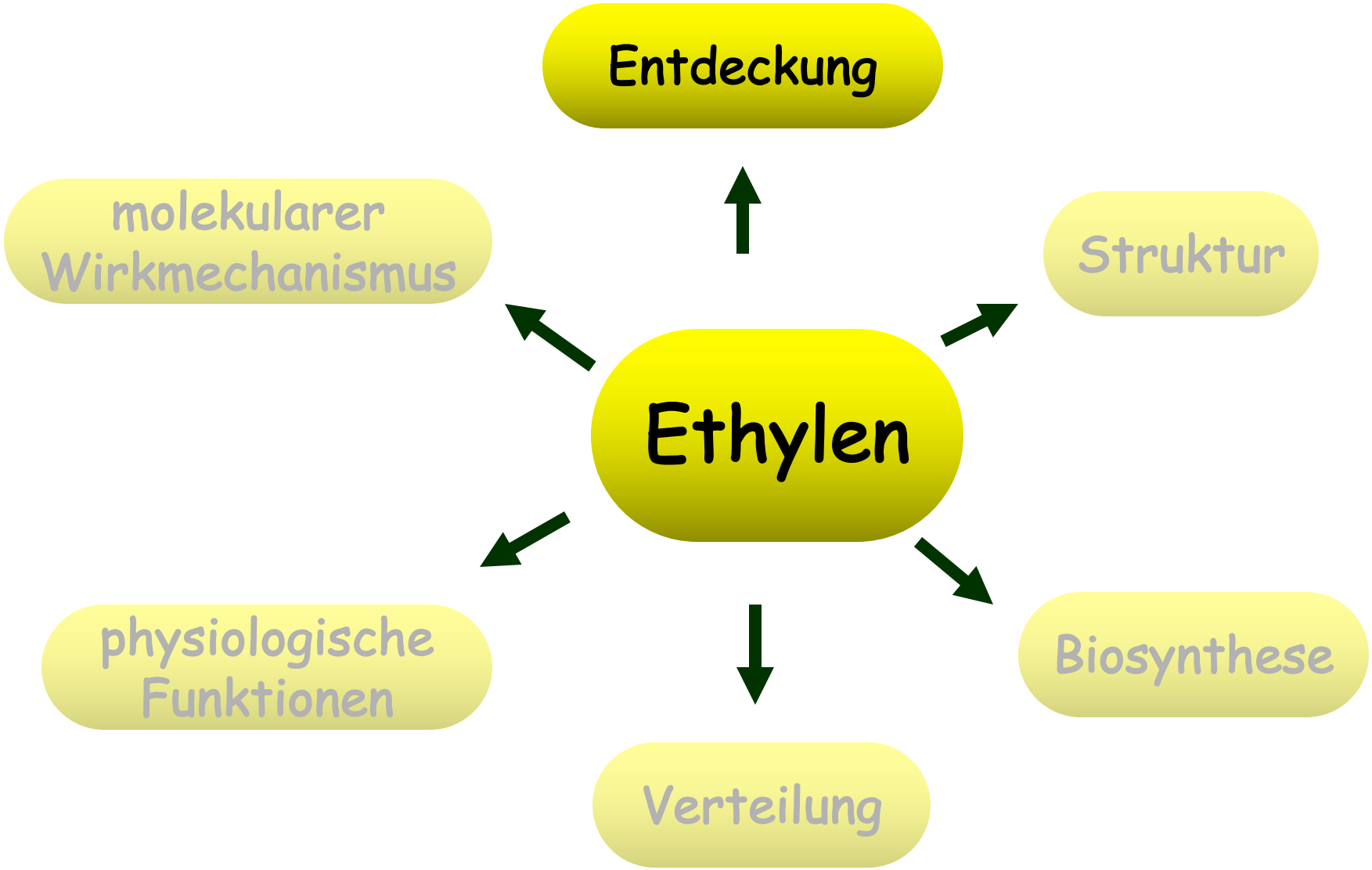
| | |
|---|---|
| Auxin | IAA |
| Cytokinin | CK |
| Gibberellin (-säure) | GA |
| Abscisin (-säure) | ABA |
| Ethylen | |

# Was ist ein Pflanzenhormon ?

## weitere Substanzen mit Phytohormon-Eigenschaften

| | |
|---|---|
| Jasmonate | JA |
| Brassinosteroide | BR |
| Peptide (Systemin) | |
| Salicylsäure | SA |


Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung


Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Entdeckung der Ethylens

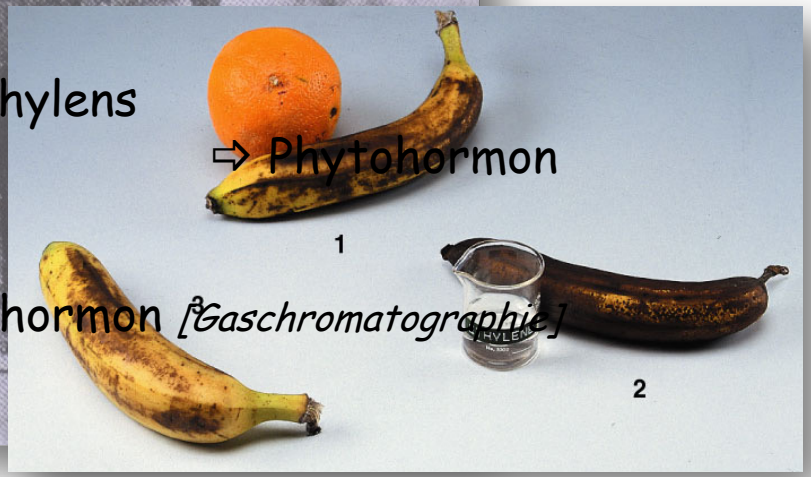
**Kohlengas der Straßenlaternen führt zu erhöhtem Laubfall benachbarter Bäume**

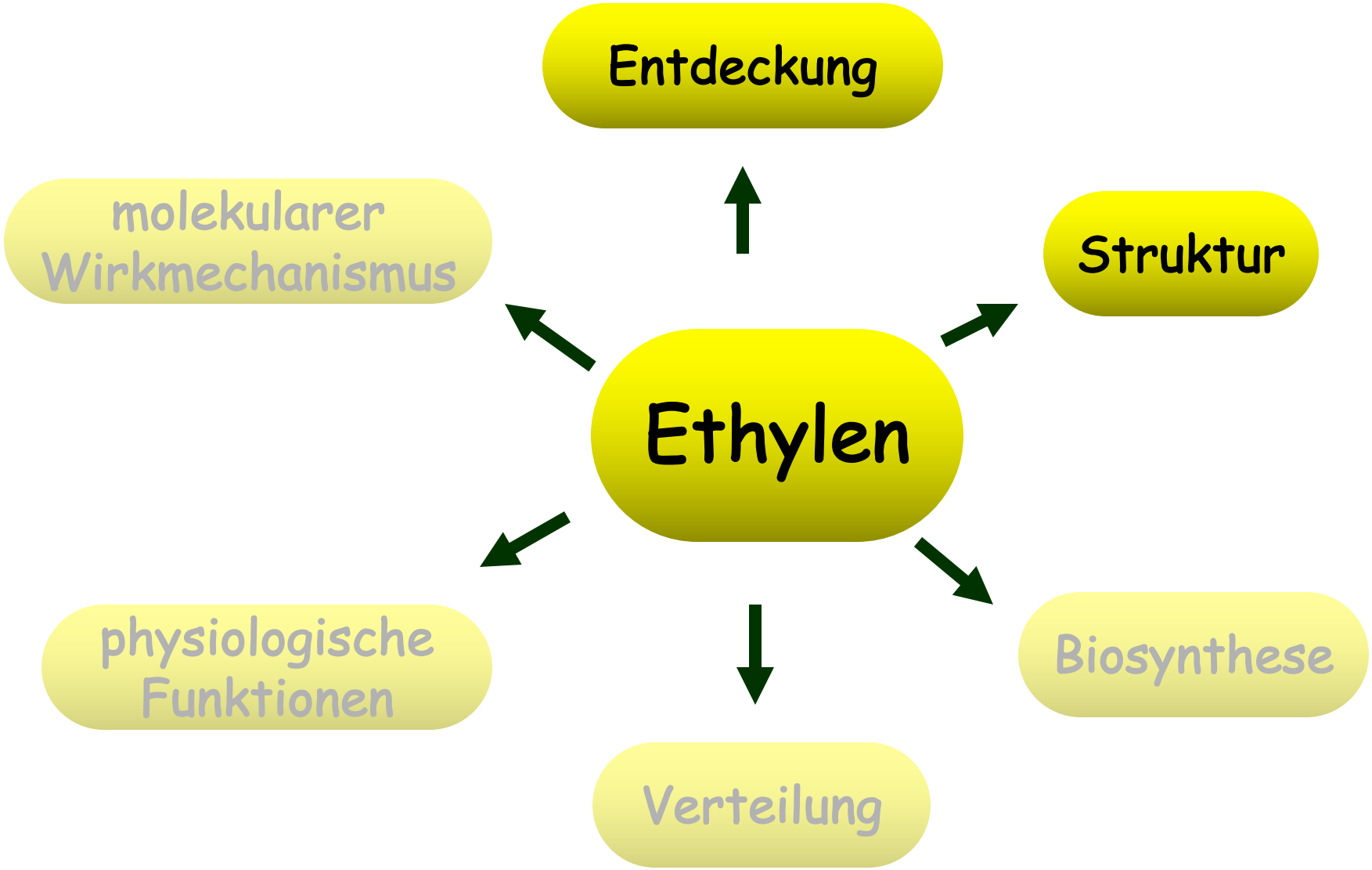
1901 - Dimitry Neljubow *(russischer Student am Botanical Institute of St. Petersburg)*
Ethylen ist aktive Komponente im Kohlengas
Versuche mit Erbsenkeimlingen *(Phänotyp im Dunkeln unter Ethylen)*

1910 - H. H. Cousins
Ethylen ist ein natürliches Produkt in Pflanzen
*reifende Früchte verstärken Reifung anderer Früchte*

1934 - R. Gane
chemische Identifizierung des Ethylens
im pflanzlichen Metabolismus ⇨ Phytohormon

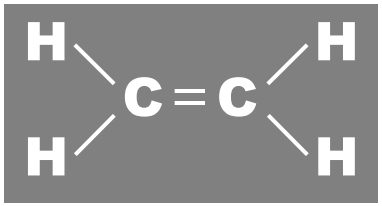
1959 - Burg and Thimann
Bedeutung des Ethylens als Phytohormon *[Gaschromatographie]*

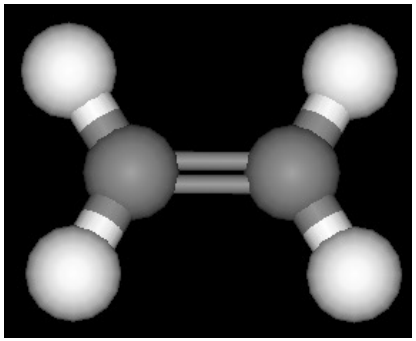



Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Die chemische Natur von Ethylen

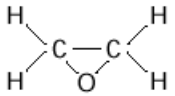
## Ethylen ist ein gasförmiges Pflanzenhormon



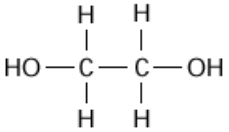



Ethylen:

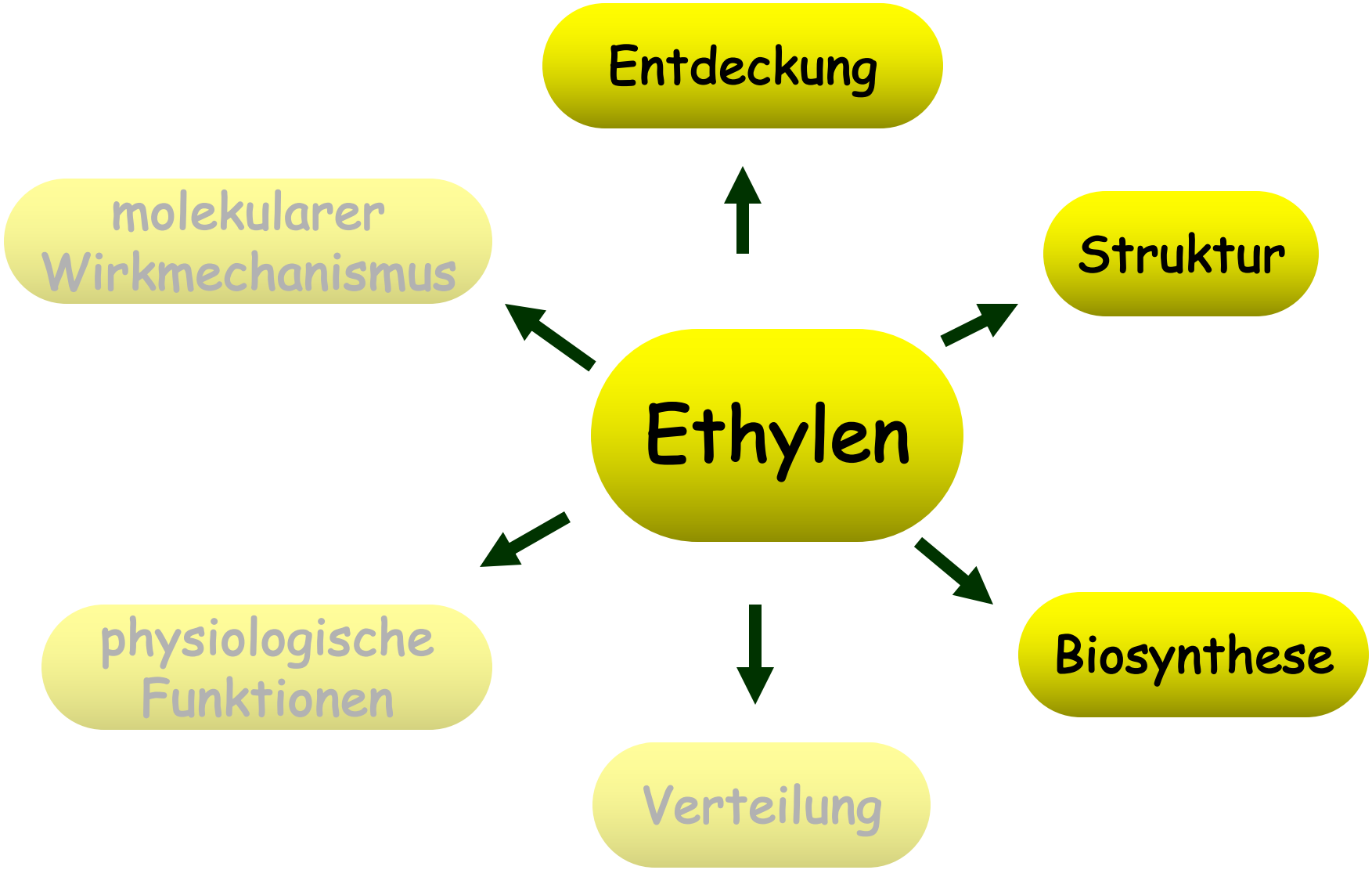
- das einfachste Olefin/ Alken
- MW 28
- entzündlich
- oxidierbar zu Ethylenoxid
  (weiter hydrolysierbar zu Ethylenglykol)
- in Pflanzen vollständig oxidierbar zu $CO_2$




Ethylene oxide




Ethylene glycol


Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Ethylen-Biosynthese

## Ethylen wird aus Methionin synthetisiert [Lieberman and Mapson, 1964]

Methionin (Met)

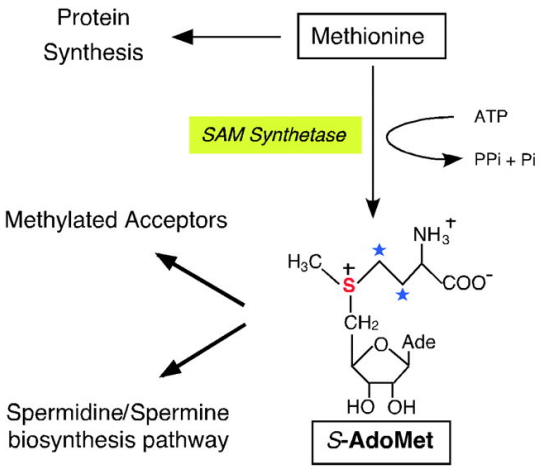
Ethylen

C-3 und C-4 (★) des Methionins bilden Ethylen

$CH_3$-S-Gruppe wird recycled *(Yang-Zyklus)*

# Ethylen-Biosynthese

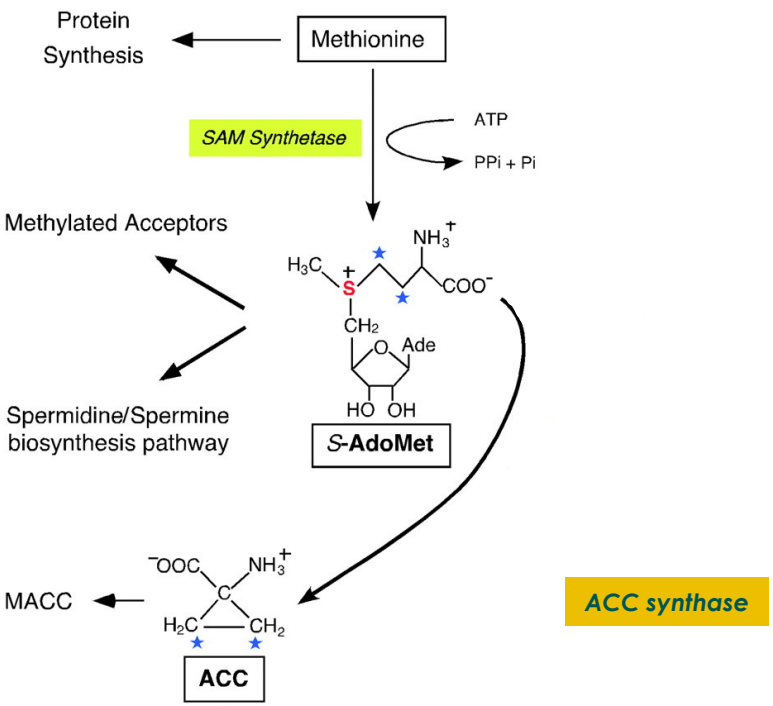
## Aktivierung des Methionins ⇒ SAM (S-Adenosyl-Methionin)




**SAM synthetase ⇒ SAM**

# Ethylen-Biosynthese

## **ACC** ist die erste Zwischenstufe [Adams and Yang, 1979]




**SAM synthetase ⇒ SAM**

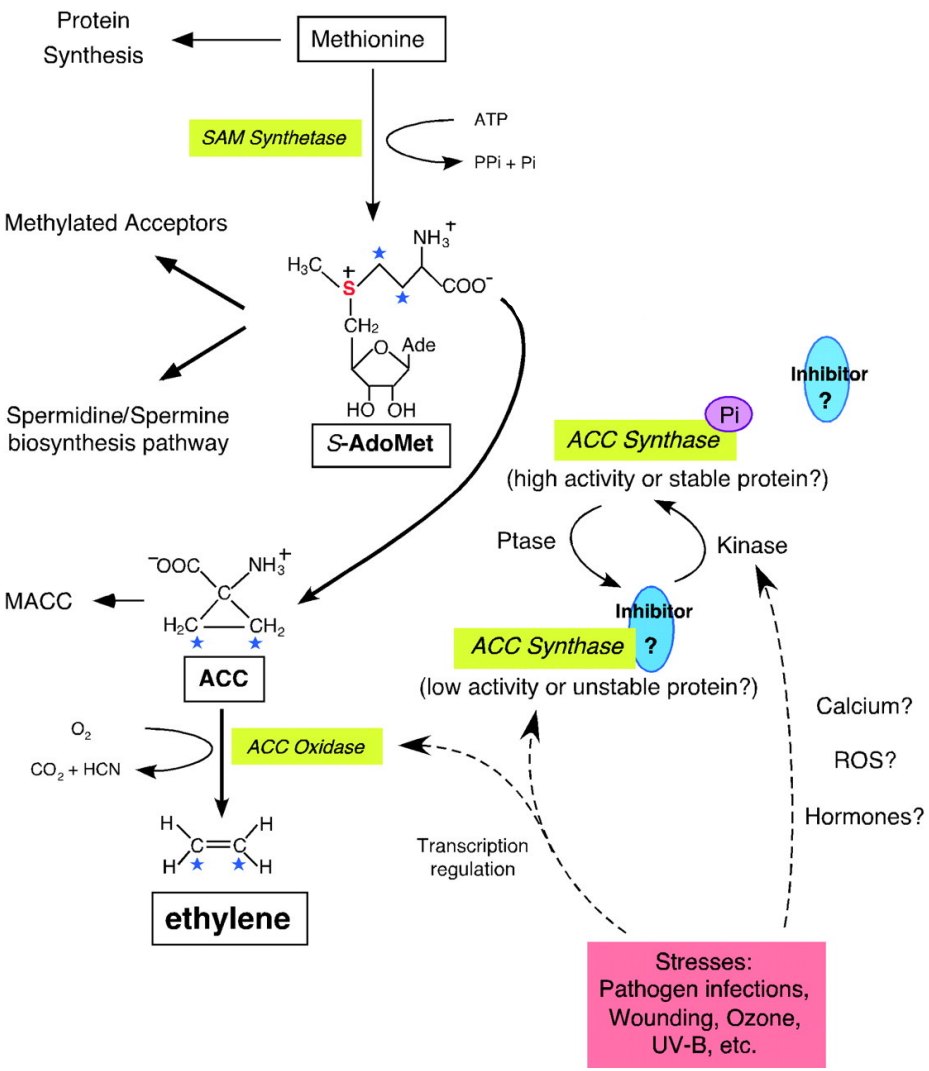
**ACC synthase ⇒ ACC***

**ACC oxidase ⇒ Ethylen**

***ACC = 1-Aminocyclopropan-1-Carboxylsäure**

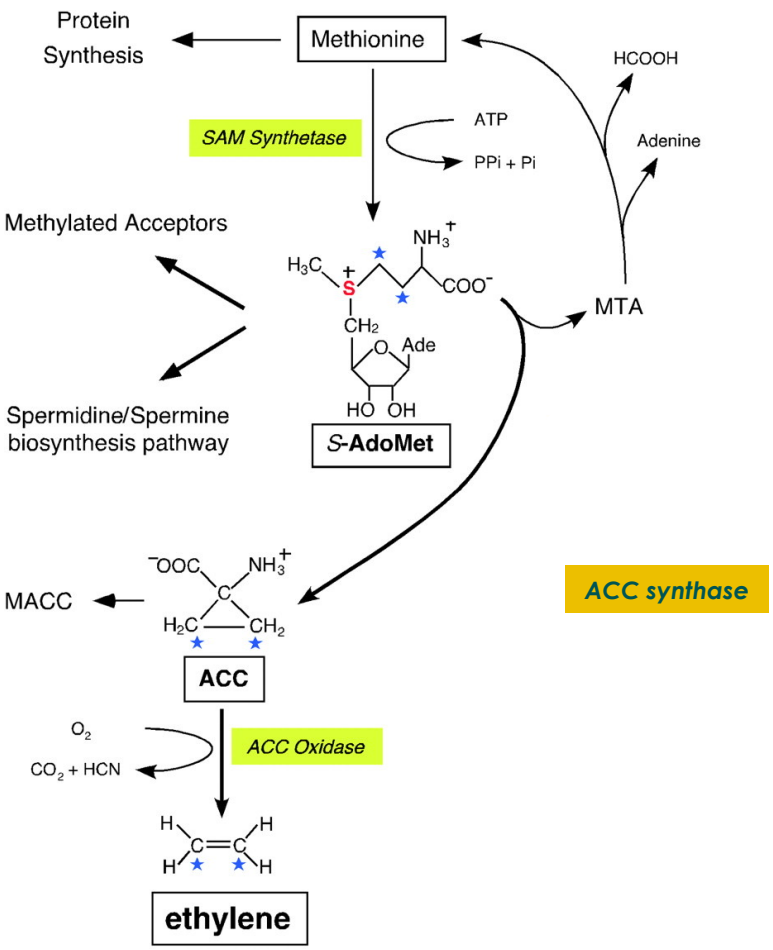
# Ethylen-Biosynthese

## **ACC-Synthase** und **ACC-Oxidase** sind komplex reguliert



# Ethylen-Biosynthese

## Methionin wird durch den Yang-Zyklus regeneriert

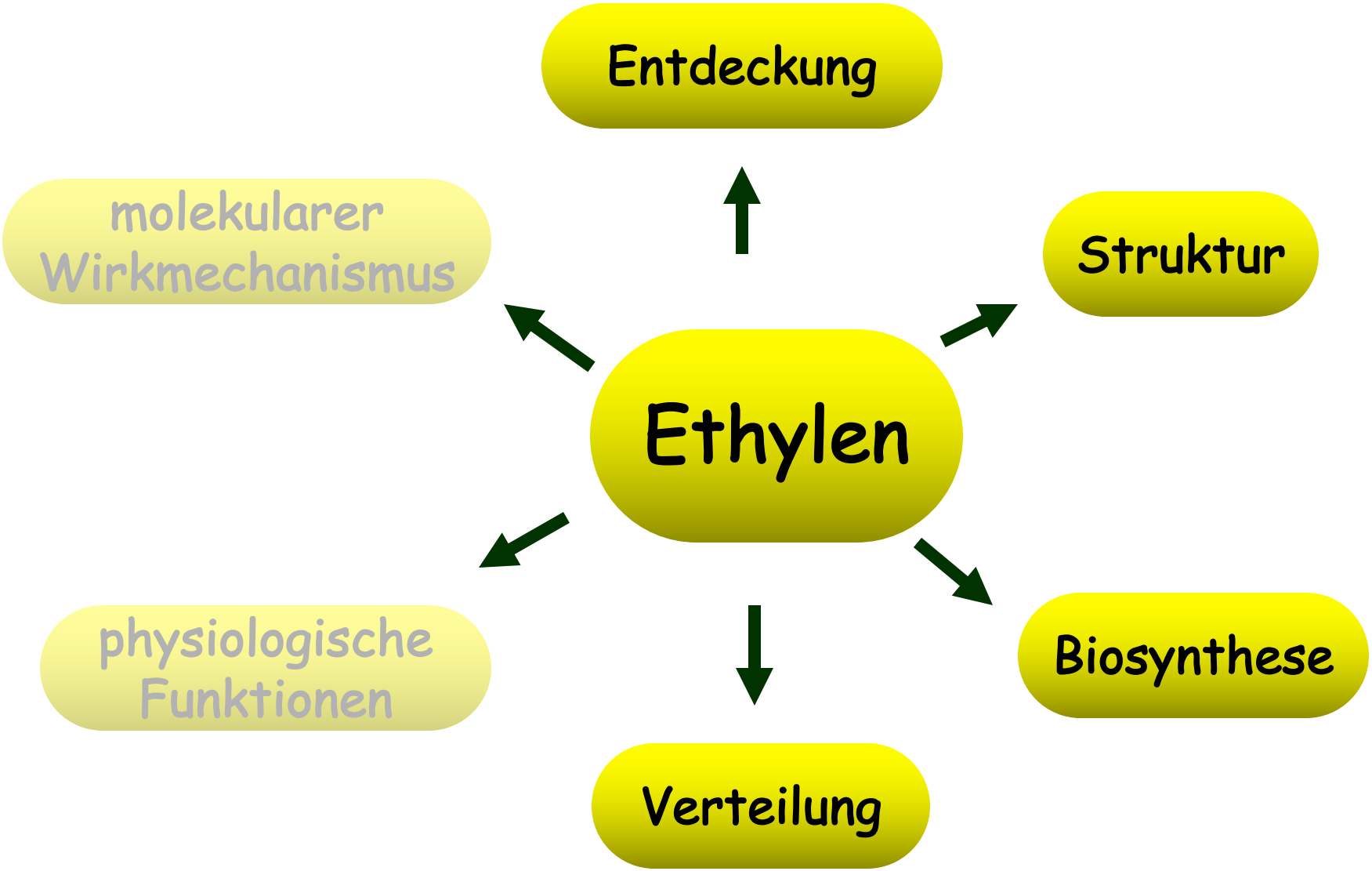



**Methionin** wird in allen Geweben in konstanten Mengen gebildet

Gewebe mit hoher Ethylen-Produktion müssen Methionin regenerieren

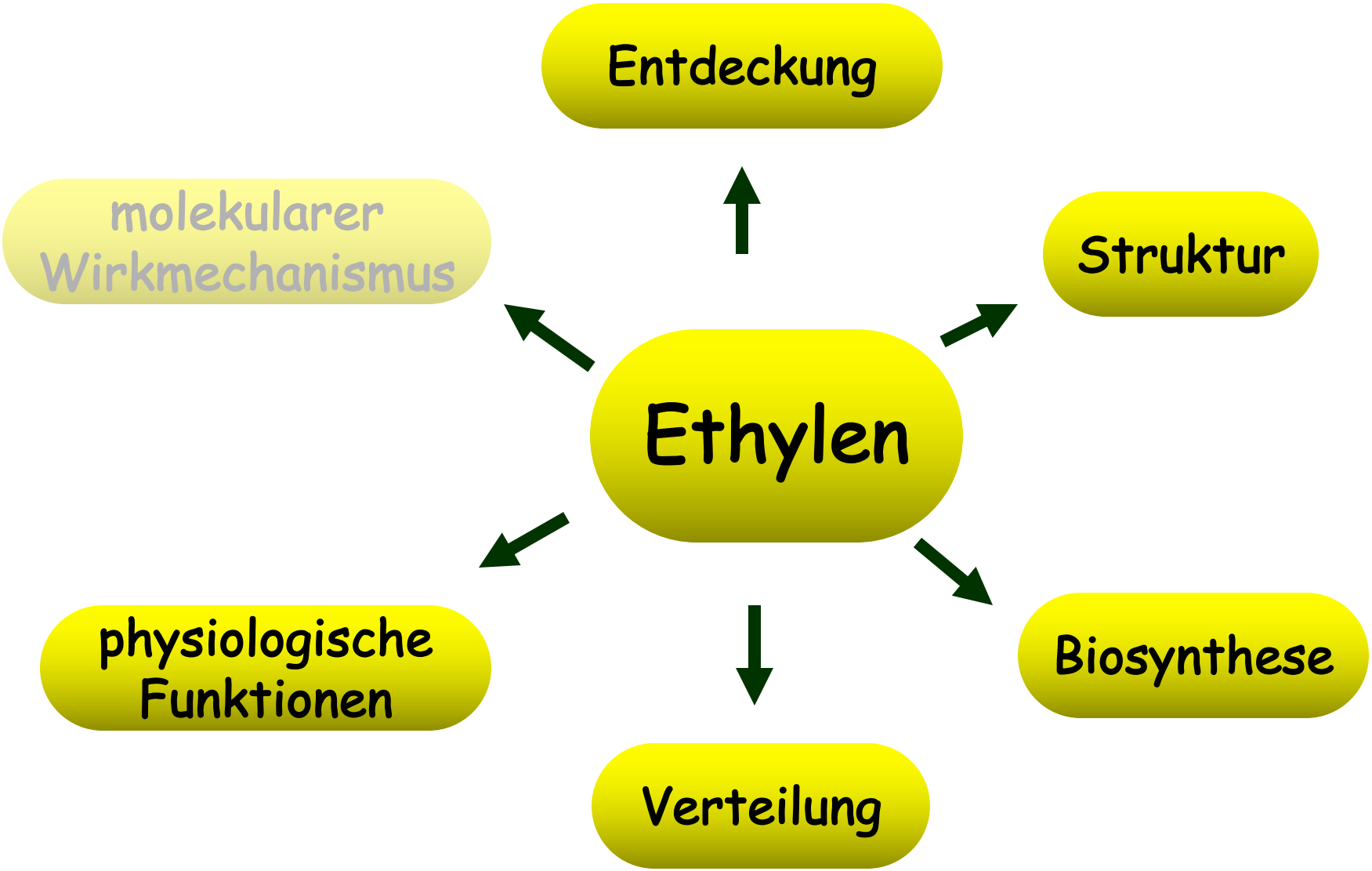
**ACC**-Oxidase ist $O_2$-abhängig

$\Rightarrow$ keine Ethylenbildung bei Anoxie


Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Verteilung von Ethylen

- kein aktiver Ethylen-Transport
- wird leicht aus den Geweben freigesetzt
- diffundiert im Interzellularraum
- 'ethylene-trapping systems'
  bei Lagerung von Früchten *(Kaliumpermanganat; $KMnO_4$)*
- Ethylen ist biologisch aktiv bei
  **1 µl/L** in der Gasphase bei 25° C
  (entspricht **4.4 x $10^{-9}$ M** Ethylen in Wasser)

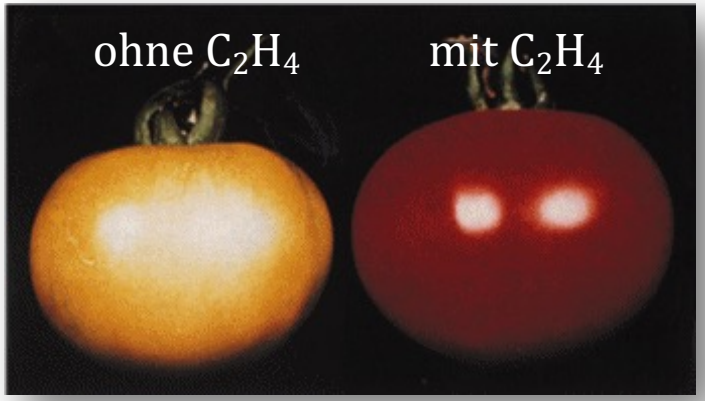

Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Ethylen-Effekte

## Differenzierungsbedingte und physiologische Ethylenwirkungen

**Ethylen ...**

... fördert Fruchtreife



# Ethylen-Effekte

## Differenzierungsbedingte und physiologische Ethylenwirkungen

**Ethylen ...**

... fördert Fruchtreife

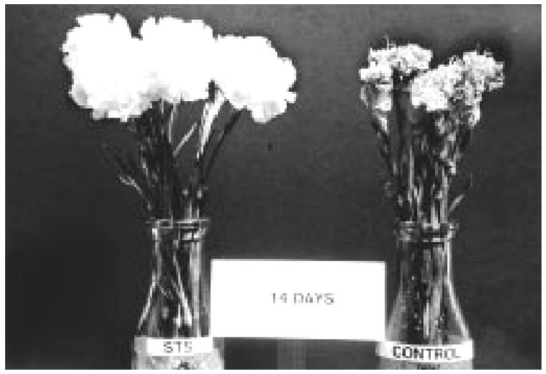
... induziert Blatt-Epinastien bei Anoxie

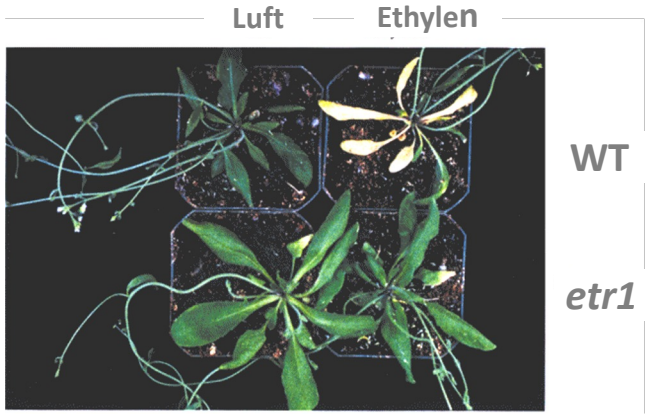
... fördert laterales Dehnungswachstum

... induziert Wurzelhaare

... beschleunigt Blattseneszenz

... fördert Abscission (Auxin-gesteuert)




exogenes Ethylen (oder ACC ) beschleunigt Blattseneszenz *(Antagonist zu Cytokinin)*

Hemmstoffe der Ethylensynthese ($Ag^+$) verzögern Seneszenz

in Ethylen-Mutanten (z.B. *etr1*) ist die Blattseneszenz verzögert

# Ethylen-Effekte

## Differenzierungsbedingte und physiologische Ethylenwirkungen

**Ethylen ...**

... fördert Fruchtreife

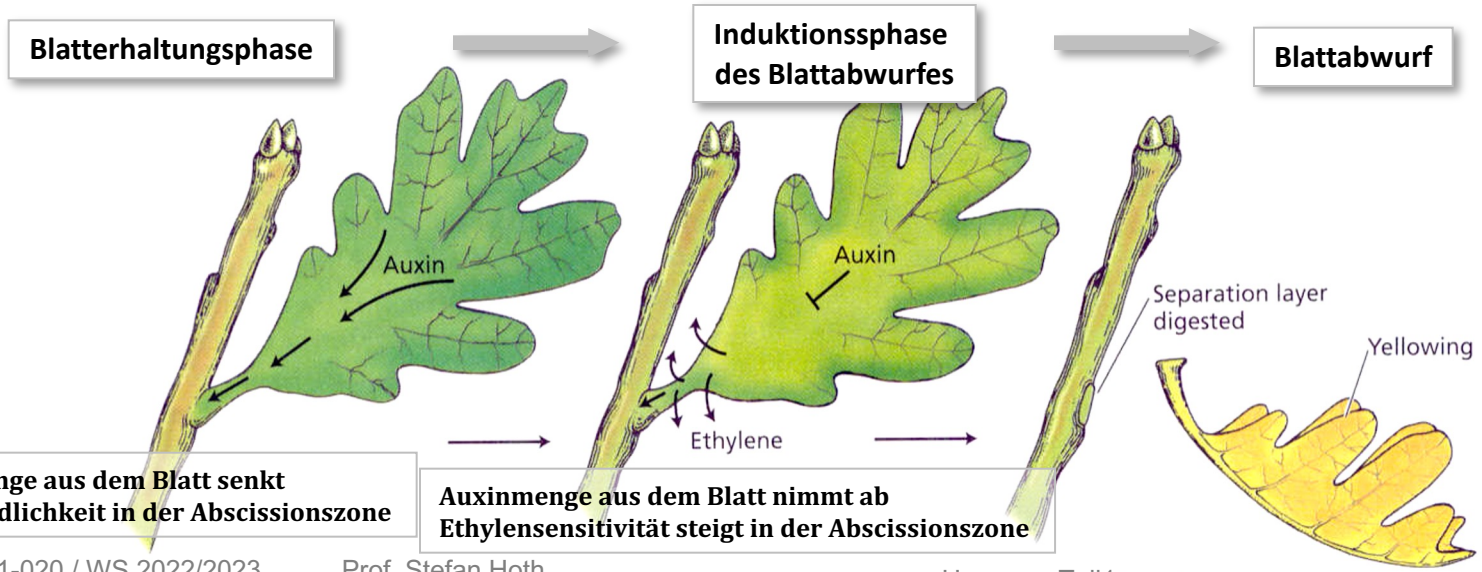
... induziert Blatt-Epinastien bei Anoxie

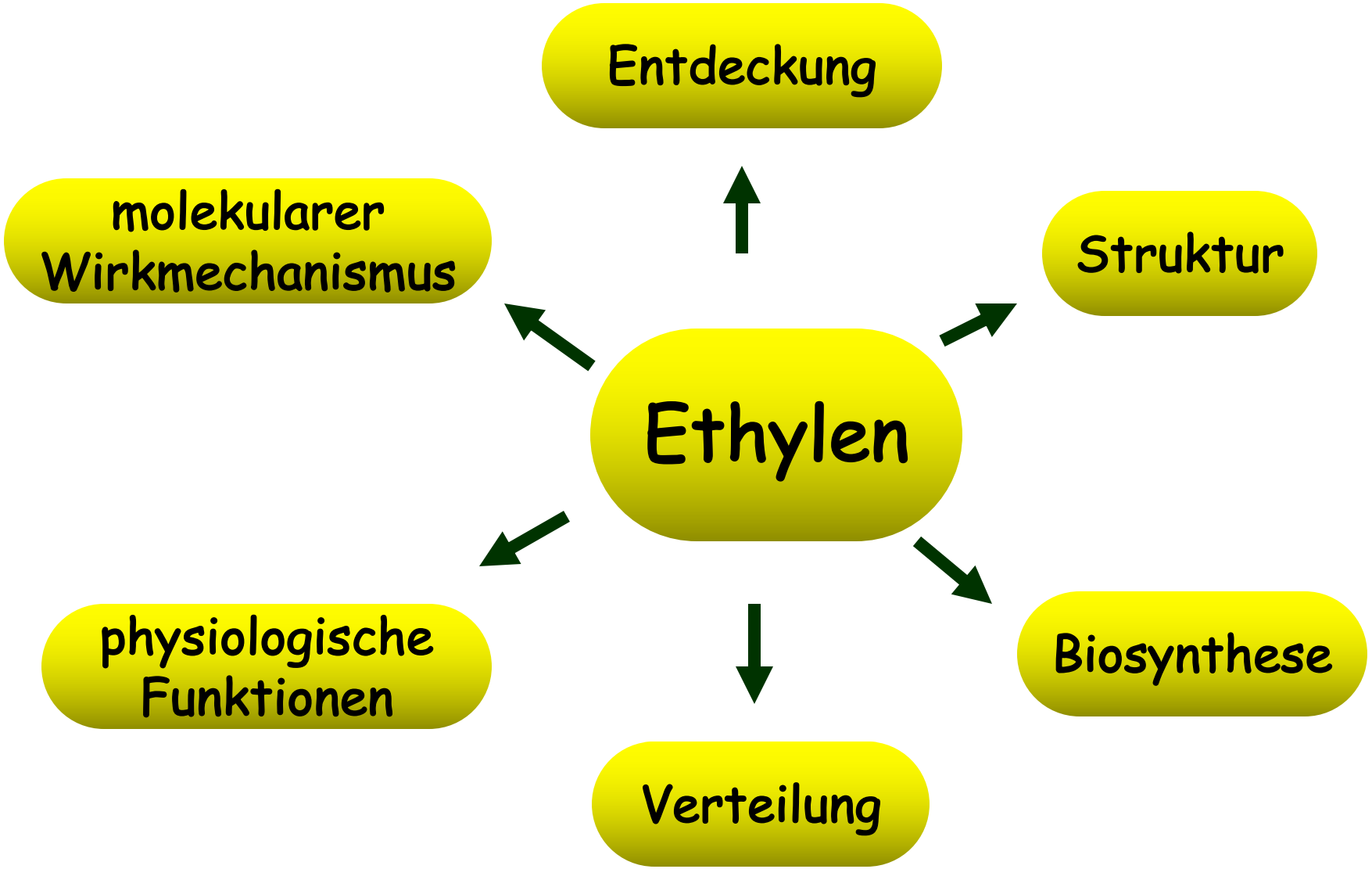
... fördert laterales Dehnungswachstum

... induziert Wurzelhaare

... beschleunigt Blattseneszenz

... fördert Abscission *(Auxin-gesteuert)*




Entdeckung
molekularer Wirkmechanismus
Struktur
Ethylen
physiologische Funktionen
Biosynthese
Verteilung

# Der molekulare Wirkmechanismus

**Ethylen beeinflußt viele Differenzierungsvorgänge**

**Die ersten Schritte dabei sind wahrscheinlich gleich**

Bindung an Rezeptor

⇩

Aktivierung einer/mehrerer Signalketten

⇩

zelluläre Antwort

Aufklärung vieler Einzelschritte über

Ethylen-Response-Mutanten

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Screening nach Ethylen-Response-Mutanten

2 Klassen von Phytohormon-Mutanten:

- Störungen in der Hormon-Biosynthese
- Störungen in der Hormon-Antwort

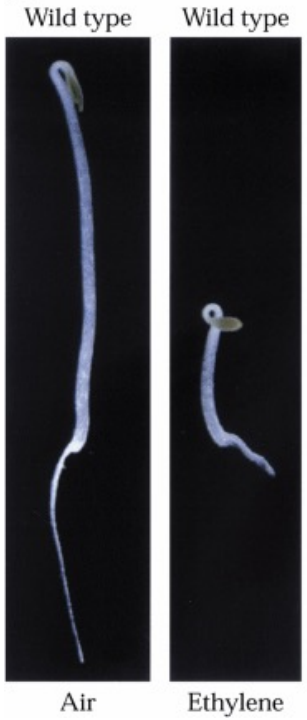
**Voraussetzung** für Mutanten-Screening: leicht detektierbarer **Phänotyp**

(z.B. Etiolierung ⇔ Lichtsignale/Phytochrom)

Phänotyp etiolierter Keimlinge unter Ethyleneinwirkung

**'triple response'** (Dreifach-Reaktion):

1. reduzierte Hypokotyl-Streckung
2. verstärktes laterales Wachstum ('swelling')
3. verstärkter apikaler Haken



# Der molekulare Wirkmechanismus

## Identifizierung von Ethylen-resistenten/-insensitiven Mutanten

Mutagenisieren von Arabidopsis Samen

⇩

Screening von 75000 Keimlingen

⇩

Identifizierung von 3 Mutanten

Mutante *etr (ethylene-resistant)*

- etr-Phänotyp dominant
- alle Ethylen-Reaktionen sind blockiert
- Rezeptor mutiert?

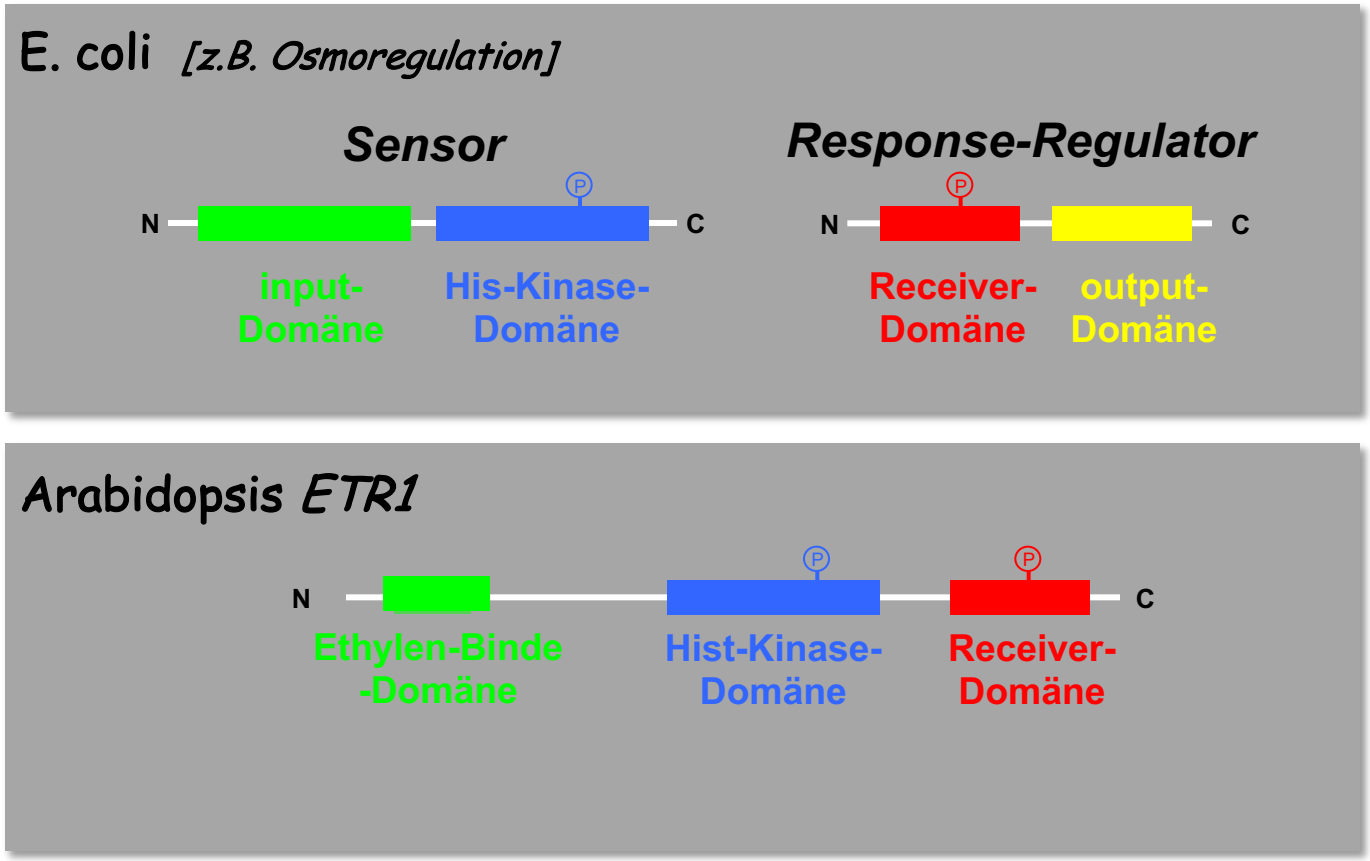
**Bleecker AB, Estelle MA, Somerville C, Kende H** (1988) *Science* **241:** 1086–1089

**Guzmán P, Ecker JR** (1990) *Plant Cell* **2:** 513–523

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Klonierung des Ethylen-Rezeptors ETR1

***ETR1 zeigt Homologie zu bakteriellen 'two-component' Regulatoren***

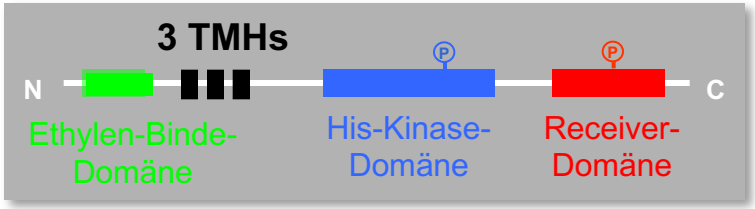


# Der molekulare Wirkmechanismus

## Charakterisierung des Ethylen-Rezeptors ETR1

*ETR1*-Expression in Hefen → Bindung radioaktiven Ethylens

*ETR1* hat N-terminal 3 Transmembranspannen



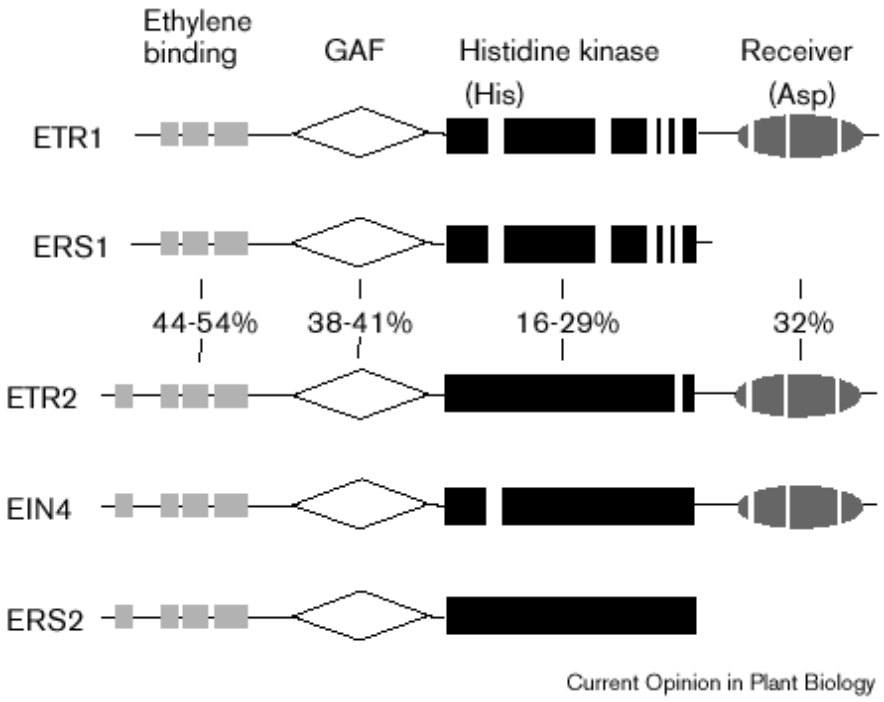

*ETR1* bildet ein Dimer in der Membran

*ETR1* ist in der ER-Membran lokalisiert

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Klonierung weiterer Ethylen-Rezeptoren

Arabidopsis hat 4 weitere ETR1-Homologe




ER

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Warum ist die *etr1*-Mutation dominant ?

Warum sind *etr1*-Mutanten insensitiv, wenn es 4 weitere Rezeptoren gibt ?

Rezeptoren formen Hetero-Multimere

⇨ *Ausfall einer Komponente bedingt Ausfall des Komplexes*

*oder* *etr1*-Mutation führt zu 'gain-of-function'

*Rezeptor ist Repressor*

wt-*Rezeptor aktiv ("AN") ohne Ethylen, inaktiv ("AUS") mit Ethylen*

*Mutante wäre auch mit Ethylen aktiv ("AN")*

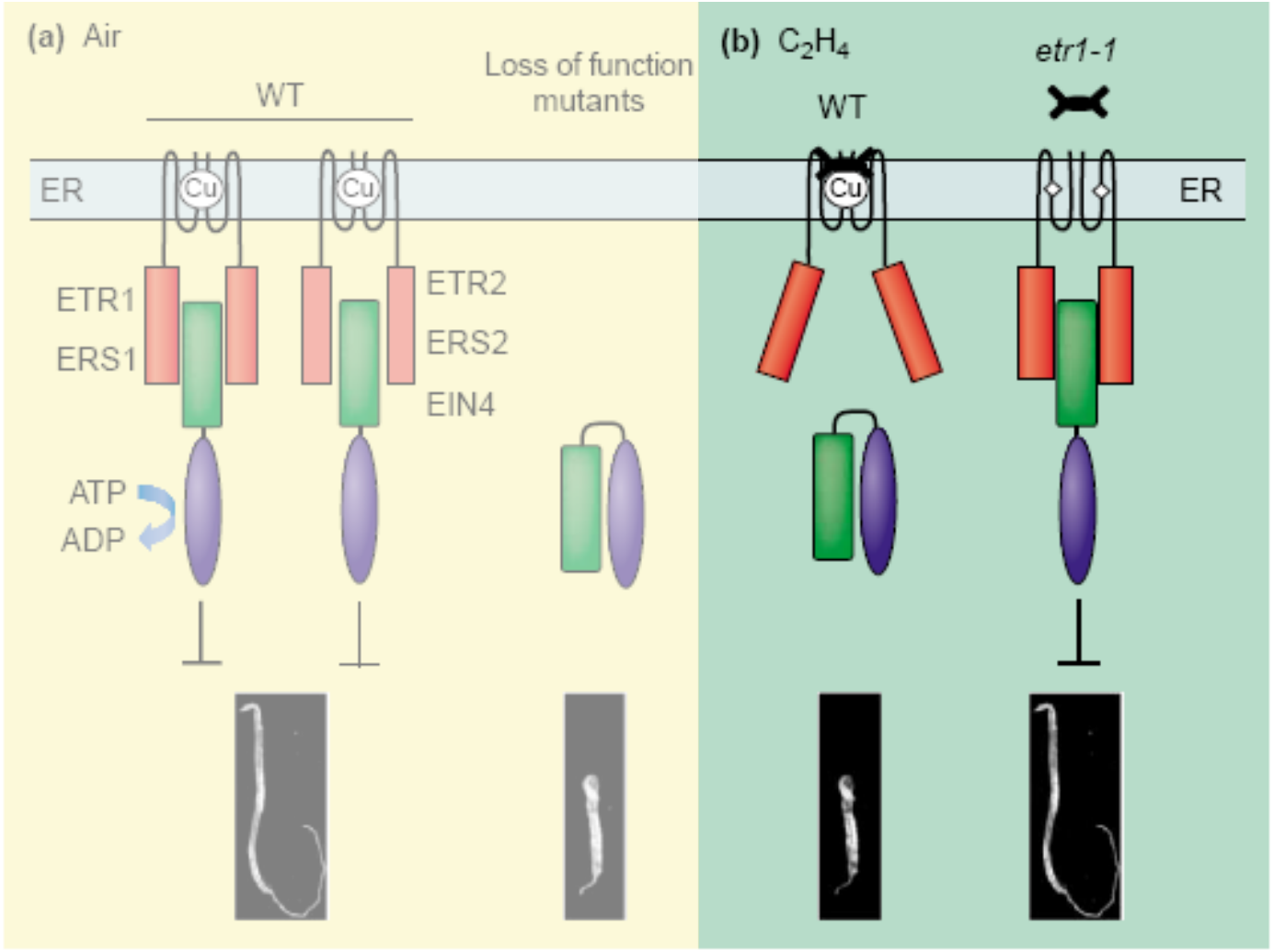
**Nachweis des 'gain of function'-Modells:**

Mutation aller 5 Rezeptoren führt zu konstitutivem Ethylen-Response-Phänotyp

**Ethylenrezeptoren sind negative Regulatoren der Signalkette**

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Modell der Ethylen-Signalkaskade



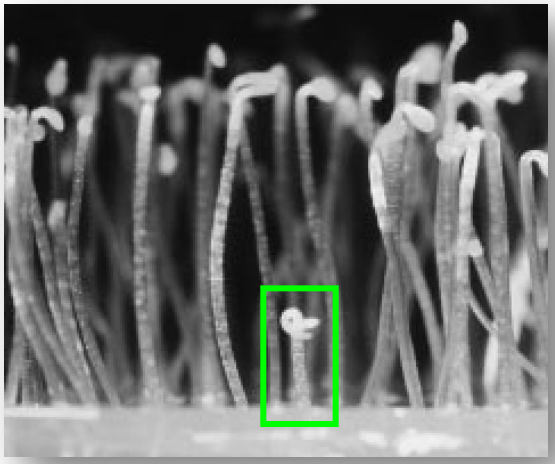

Current Opinion in Plant Biology

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Identifizierung konstitutiver Ethylen-Response-Mutanten

Mutante zeigt 'triple response' auch ohne Ethylen

*ctr1* ('constitutive triple response')

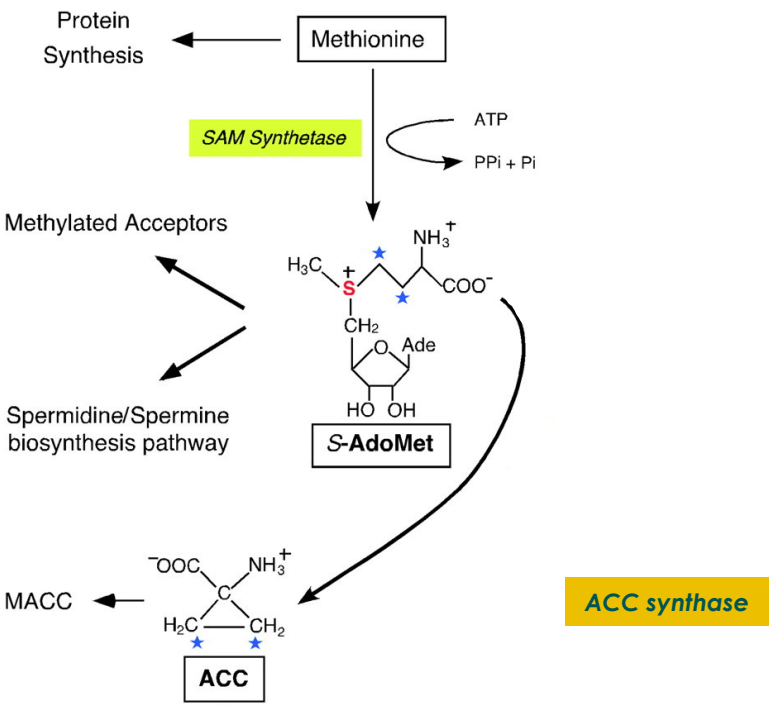


**CTR1** ist eine Ser/Thr-Proteinkinase (MAPKKK)

**CTR1** interagiert mit ETR1 im ER

# Ethylen-Biosynthese

## *ACC ist die erste Zwischenstufe* *[Adams and Yang, 1979]*




**SAM synthase ⇒ SAM**

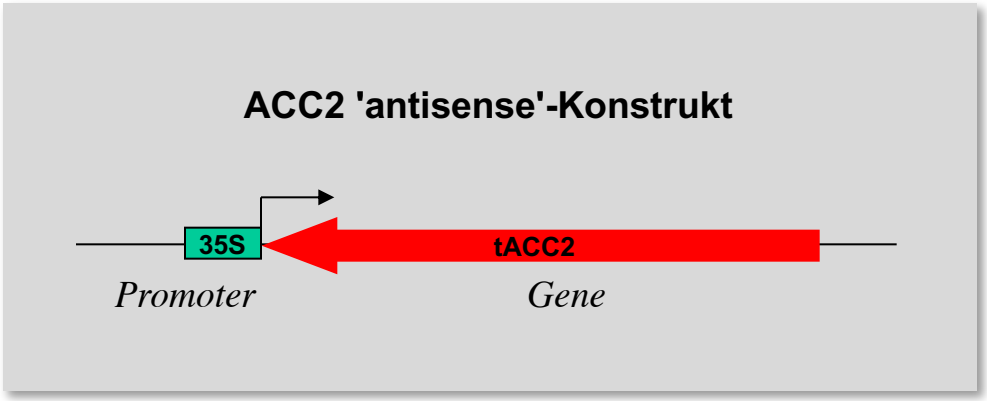
**ACC synthase ⇒ ACC***

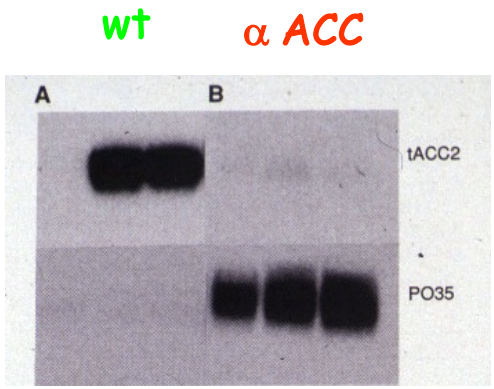
**ACC oxidase ⇒ Ethylen**

***ACC = 1-Aminocyclopropan-1-Carboxylsäure**

# Der molekulare Wirkmechanismus

## transgene Tomaten: ACC2 'antisense'-Konstrukt



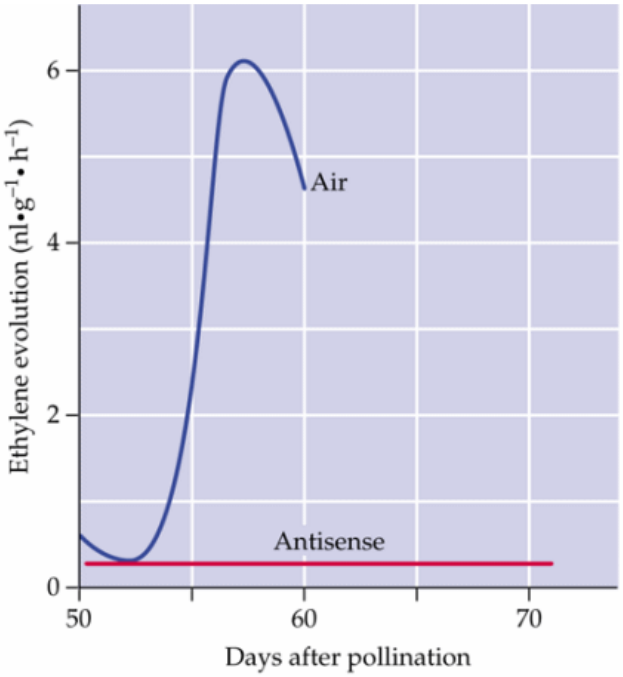



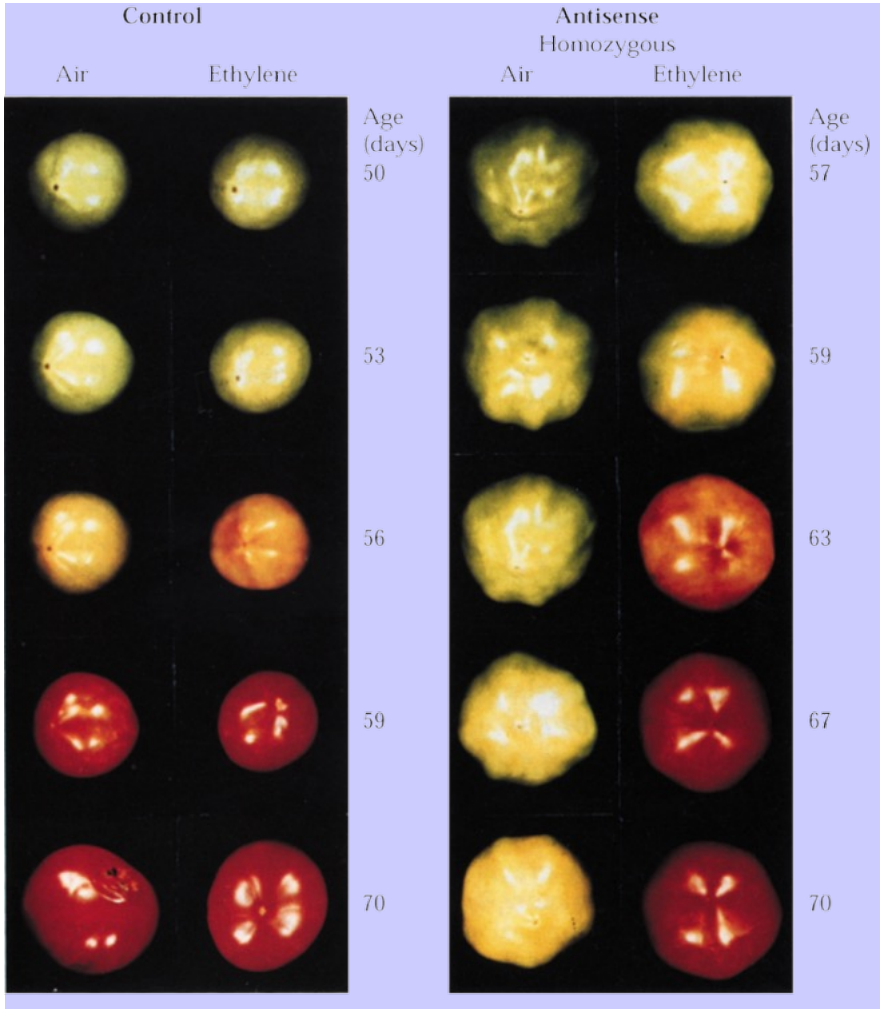

⇒ **ACC-Synthase herunterreguliert**

⇒ **verringerte Ethylensynthese**

# Der molekulare Wirkmechanismus

## Biotechnologie




*wt* *ACC antisense*

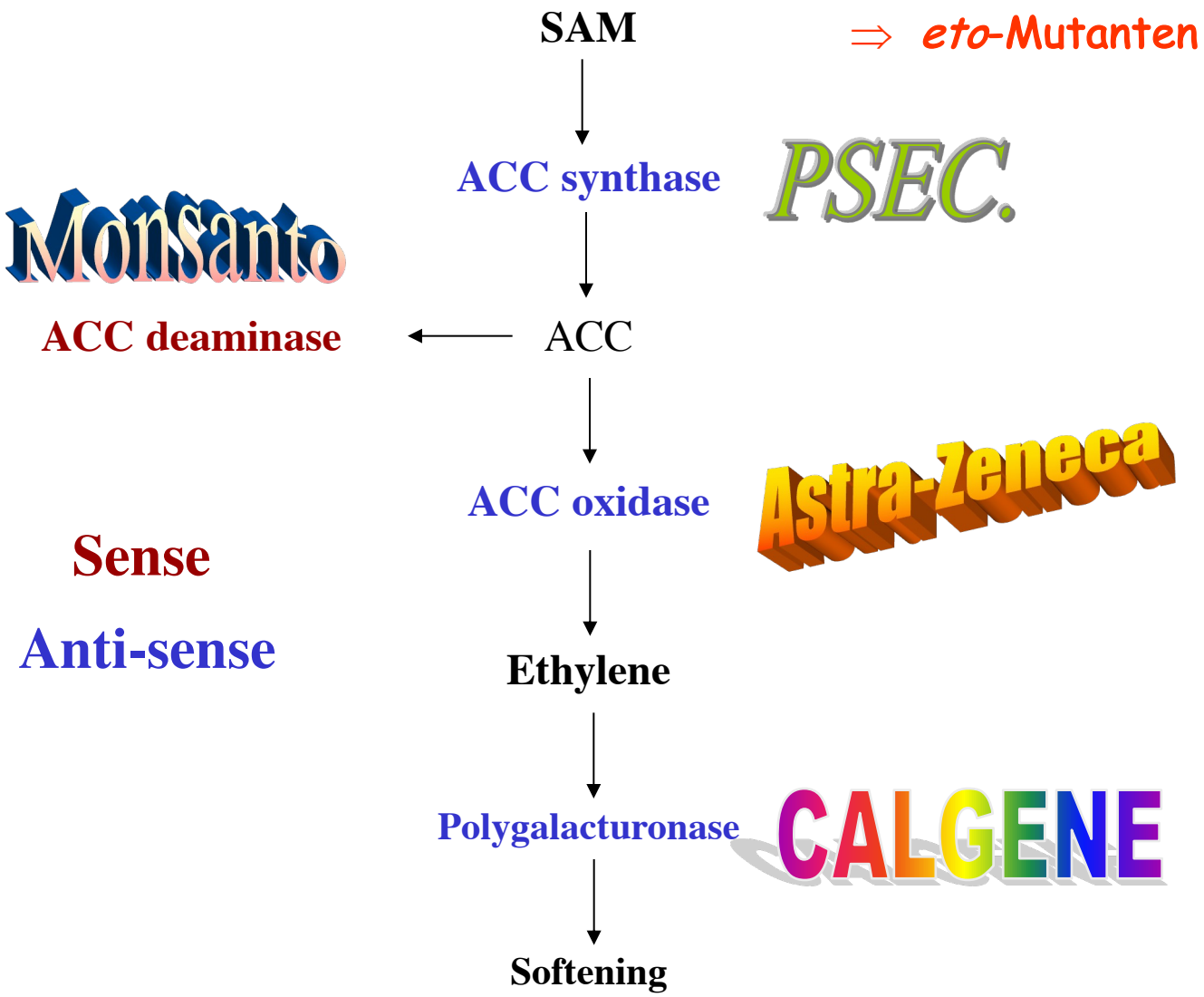
# Der molekulare Wirkmechanismus

## Biotechnologie

*ACC antisense* *wt*

ACC-Antisense 3 Wochen nach Reifebeginn bei RT gelagert

# Patented steps in the production of ethylene



# Zusammenfassung: